

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Kateřina Dlouhá

Analýza extraktů ovoce a zeleniny metodami atomové
spektrometrie

Analysis of fruits and vegetables extracts by atomic
spectrometry methods

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků získaných v této práci mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 22. května 2019

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu RNDr. Jakubovi Hraníčkovi, PhD. za odborné vedení a za pomoc a rady při zpracování této práce.

Abstrakt

Cílem této bakalářské práce bylo stanovení vybraných prvků (lithia, sodíku, draslíku, hořčíku a vápníku) v ovocných a zeleninových extraktech. Pro toto stanovení byla použita metoda atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací.

Před analýzou reálných vzorků byly zjištěny optimální podmínky pro stanovení uvedených prvků. Optimalizované podmínky byly výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetyleny. Za zjištěných optimálních podmínek byly dále zjištěny základní charakteristiky stanovení jednotlivých prvků.

Optimální podmínky a základní charakteristiky metody atomové absorpční a atomové emisní spektrometrie byly porovnány a pro stanovení analytů ve vzorcích byla vybrána metoda atomová absorpční spektrometrie.

Zjištěné optimální podmínky byly použity při stanovení vybraných prvků v reálných vzorcích. Tyto vzorky byly před měřením vhodně naředěny. Celkem bylo analyzováno 36 vzorků ovocných a zeleninových šťáv.

Klíčová slova

-atomová absorpční spektrometrie, atomová emisní spektrometrie, plamenová atomizace, ovocné a zeleninové šťávy, lithium, sodík, draslík, hořčík, vápník

Abstract

The aim of this thesis was to determinate selected elements (lithium, sodium, potassium, magnesium and calcium) in fruit and vegetable extracts. Flame atomic absorption spectrometry was used for this determination.

Before the analysis of the real samples, the optimal conditions for the determination of these elements were found. Optimized conditions were the beam height above the burner edge and the acetylene flow rate. Under the optimal conditions, the basic characteristics of the determination of individual elements were determined.

The optimal conditions and basic characteristics of the atomic absorption and atomic emission spectrometry method were compared and the atomic absorption spectrometry method was chosen for the determination of analytes in samples.

The determined optimal conditions were used in the determination of selected elements in real samples. These samples were suitably diluted prior to measurement. A total of 36 samples of fruit and vegetable juices were analyzed.

Keywords

-atomic absorption spectrometry, atomic emission spectrometry, flame atomization, fruits and vegetables extracts, lithium, sodium, potassium, magnesium, calcium

Obsah práce

1	ÚVOD	- 8 -
1.1	Cíle bakalářské práce	- 9 -
2	TEORETICKÁ ČÁST	- 10 -
2.1	Stanovované prvky	- 10 -
2.1.1	Lithium	- 10 -
2.1.2	Sodík a draslík	- 10 -
2.1.3	Hořčík a vápník	- 10 -
2.1.4	Stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin	- 11 -
2.2	Atomová absorpční spektrometrie	- 11 -
2.2.1	Princip metody	- 11 -
2.2.2	Experimentální uspořádání	- 12 -
2.2.3	Využití	- 14 -
2.3	Atomová emisní spektrometrie	- 14 -
2.3.1	Princip metody	- 14 -
2.3.2	Experimentální uspořádání	- 15 -
2.3.3	Využití	- 16 -
2.4	Statistické vyhodnocení	- 17 -
2.5	Základní charakteristiky měření	- 18 -
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 19 -
3.1	Používané přístroje a zařízení	- 19 -
3.2	Používané chemikálie	- 19 -
3.3	Postup práce	- 19 -
3.3.1	Příprava roztoků	- 19 -
3.3.2	Optimalizace	- 20 -
3.3.3	Kalibrační závislost	- 20 -
3.3.4	Určení základních charakteristik	- 20 -
3.3.5	Přehled vzorků	- 20 -
3.3.6	Úprava vzorků	- 22 -
3.3.7	Stanovení vybraných kovů ve vzorcích	- 22 -
4	VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE	- 23 -
4.1	Optimalizace podmínek	- 23 -
4.2	Kalibrační závislost	- 27 -
4.3	Určení základních charakteristik	- 30 -
4.4	Obsah kovů ve vzorcích	- 30 -
5	ZÁVĚR	- 34 -
	Použitá literatura	- 35 -

Seznam uvedených zkratk a symbolů

A	absorbance
a	směrnice kalibrační přímky
ETA-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
h	výška paprsku nad hranou hořáku
HCL	výbojka s dutou katodou (z anglického hollow cathode lamp)
HG-AAS	atomová absorpční spektrometrie spojená s generováním hydridů
I	intenzita záření
ICP-AES	atomová emisní spektrometrie spojená s indukčně vázaným plazmatem
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie spojená s indukčně vázaným plazmatem
k_{λ}	monochromatický absorpční koeficient
k_n	tabelovaný koeficient pro výpočet směrodatné odchylky
K_n	tabelovaný koeficient pro výpočet intervalu spolehlivosti
l	délka absorpčního prostředí
$L_{1,2}$	interval spolehlivosti
LOD	mez detekce (z anglického limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (z anglického limit of quantification)
n	počet opakování daného měření
N_0	počet volných atomů v základním energetickém stavu
Q_v	průtoková rychlost [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$]
R	rozpětí výsledků
rel. A	relativní absorbance [%]
rel. I	relativní intenzita [%]
s	směrodatná odchylka
s_r	relativní směrodatná odchylka [%]
\bar{x}	aritmetický průměr
\tilde{x}	medián
x_i	hodnota i-tého měření
Φ_0	tok vstupujícího záření
Φ	tok záření

1 ÚVOD

Atomová absorpční i atomová emisní spektrometrie jsou fyzikálně-chemické optické analytické metody vhodné ke stanovení velmi nízkých, i vyšších koncentrací prvků ve vzorcích. Limity detekce se pohybují u obou metod v řádech $\mu\text{g/l}$. Stanovení pomocí obou těchto metod je velmi specifické i bez předchozí separace. Obě metody jsou vhodné pro stanovení asi 60 prvků, převážně kovů. Obě metody jsou v současné době pro stanovení kovů hojně používané, jak pro vzorky biologické, geologické nebo z oblasti životního prostředí.

Všechny prvky stanovené v této bakalářské práci (lithium, sodík, draslík, hořčík, vápník) patří mezi biogenní prvky, podílejí se tedy na stavbě organismů a jsou nezbytné pro život, vyskytují se často jako složka enzymů a proteinů.

Lithium se v lidském těle vyskytuje ve stopovém množství, jeho funkce není tak významná jako u ostatních stanovených v této bakalářské práci.

Sodík tvoří hlavní extracelulární kation, v lidském těle se podílí hlavně na regulaci acidobazické rovnováhy, udržování osmotického tlaku a na svalové kontrakci.

Draslík tvoří hlavní intracelulární kation, jeho funkce v lidském těle je udržovat acidobazickou rovnováhu, vést nervový vzruch a podílí se i na aktivitě svalů, především srdečního svalu.

Hořčík je pro člověka důležitý pro správnou činnost svalů a nervů, pro uvolňování energie z glukózy a pro správnou stavbu kostí. Hořčík je také součástí molekuly chlorofylu.

Vápník se významnou měrou podílí na stavbě pevných součástí těla (zuby, kosti).

1.1 Cíle bakalářské práce

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo stanovení vybraných prvků ve vzorcích ovocných a zeleninových šťáv. Dalšími kroky, které pomohly ke splnění tohoto cíle byly:

- optimalizace pracovních podmínek (pro stanovení jednotlivých prvků byla optimalizována výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetyleny)
- zjištění základních charakteristik měření (příprava kalibračních roztoků, sestrojení kalibračních závislostí, zjištění citlivosti, mezí detekce a stanovitelnosti, lineárního dynamického rozsahu) pro AAS a AES
- vybrání vhodné metody (porovnání atomové absorpční a atomové emisní spektroskopie)
- úprava vzorků před analýzou (ředění)
- samotná analýza upravených vzorků a vyhodnocení výsledků

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Stanovované prvky

Všechny prvky stanovované v této bakalářské práci patří mezi biogenní prvky, pro lidský organismus jsou nepostradatelné. Lithium je zastoupeno v lidském těle v malém množství (řádově miligramy) a řadí se mezi stopové prvky, sodík, draslík, hořčík a vápník patří mezi makroprvky (zastoupeny v lidském těle v řádech gramů). [1]

2.1.1 Lithium

Lithium je důležité pro správnou funkci některých enzymů a může chránit neurony před neurotoxickými látkami, má tedy neuroprotektivní účinky [2]. Používá se například při léčbě bipolární poruchy. [3]

2.1.2 Sodík a draslík

Celkový obsah sodíku v lidském těle je přibližně 70-100 g, obsah draslíku je asi 140-180 g. Sodík tvoří hlavní extracelulární kation, kdežto draslík hlavní intracelulární kation. [4]

Hlavní funkcí obou těchto prvků je udržovat osmotický tlak tekutin uvnitř a vně buněk a udržovat acidobazickou rovnováhu. Protiiontem těchto dvou kationtů je chloridový anion. Další funkcí těchto dvou prvků je aktivace některých enzymů, sodík slouží například pro aktivaci α -amylasy a draslík pro aktivaci enzymů dýchacího řetězce. [1,5]

Denní příjem sodíku a draslíku se pohybuje kolem 2-6 g, účinnost resorpce je vysoká, asi 90 %. Při nedostatku sodíku může docházet ke svalovým křečím, bolestem hlavy a průjmům. Nedostatek draslíku může vyvolat poruchu ledvin, apatii a svalovou slabost. [4]

Vysoký obsah sodíku je například v sýrech, celozrnném pečivu, špenátu a cibuli. Obsah sodíku v potravinách je možné zvýšit solením. Draslík se nachází především ve vepřovém mase, pšenici, hrachu, čočce, špenátu a v pomerančích. [4]

2.1.3 Hořčík a vápník

Obsah hořčíku v lidském těle je asi 25-40 g, většina se nachází v kostře. Vápník je z kvantitativního hlediska hlavní minerální látkou v lidském těle, jeho hmotnost u dospělého člověka je téměř kilogram, až 99 % z tohoto množství je uloženo v kostech a zubech. [6]

Hořčík je důležitý pro všechny děje v organismu, při kterých se tvoří nebo hydrolyzuje ATP. Hořčík je také esenciální pro fotosyntetizující rostliny, protože je vázán v molekule chlorofylu. [4]

Hlavní biologická funkce vápníku je funkce stavební, další funkcí je účast na nervové a svalové činnosti. Nedostatek vápníku má za následek například křehnutí kostí nebo vysoký krevní tlak [7]. Dostatek vápníku je důležitý hlavně u žen po menopauze, kde dochází k změnám v metabolismu vápníku a rychlejšímu rozrušování kostní hmoty. [8]

Potraviny bohaté na hořčík jsou například sója, pšenice, pražená káva, ořechy a špenát. Vápník nalezneme hlavně v mléčných výrobcích, vaječném žloutku, hlávkovém salátu a v sóje. [4]

2.1.4 Stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin

Pro stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin jsou vhodné metody atomová absorpční a atomová emisní spektrometrie, což jsou metody vhodné ke stanovování kovů obecně. Používají se jejich různé formy odlišné například typem atomizace u AAS (F-AAS, ETA-AAS, HG-AAS) nebo budícím zdrojem u AES (plamenová fotometrie, ICP-AES). [9]

Další možností pro stanovení těchto kovů ve formě iontů je iontová chromatografie [10], kapilární elektroforéza [11] nebo spojení indukčně vázané plazmy s hmotností spektrometrií (ICP-MS) [9].

2.2 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (zkráceně AAS) je fyzikálně-chemická optická analytická metoda, která je založena na měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy prvků v plynném stavu. Je to metoda srovnávací, výsledek získáme porovnáním signálu vzorku se signálem roztoku standardů, používá se metoda kalibrační křivky nebo přídatku standardu. [9, 12]

2.2.1 Princip metody

Vzorek je převeden do atomárního stavu, tím je vytvořeno absorpční prostředí s volnými atomy daného analytu v základním stavu. Skrz absorpční prostředí je vedeno primární monochromatické záření takových vlnových délek, jaké mohou dané atomy

absorbovat. Absorpcí se intenzita primárního záření zeslabí a toto snížení zaregistruje detektor jako hodnotu absorbance. [13]

Pro atomovou absorpční spektrometrii platí stejně jako pro ostatní optické metody Lambertův-Beerův zákon:

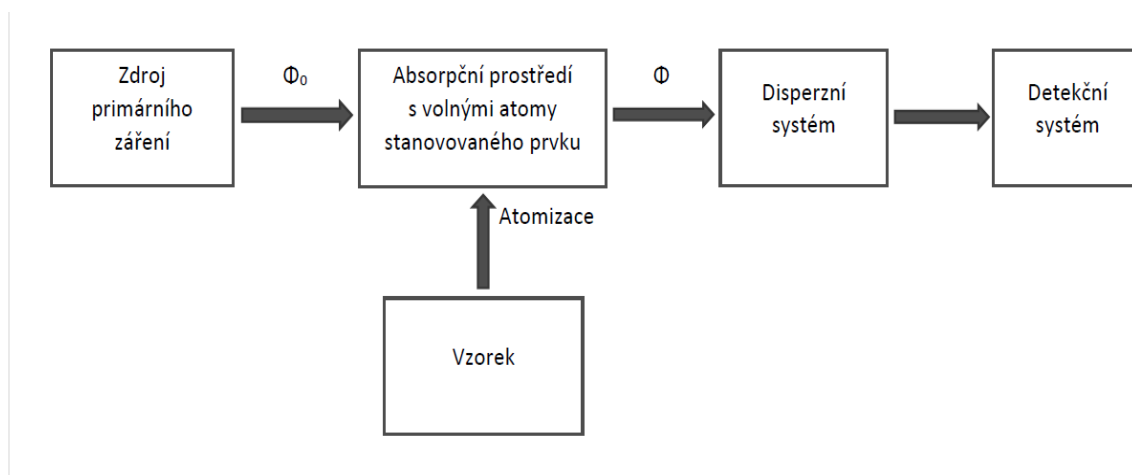
$$A_{\lambda} = k_{\lambda} \cdot N \cdot l,$$

kde A_{λ} je absorbance při dané vlnové délce, k_{λ} monochromatický absorpční koeficient pro daný přechod, N počet volných atomů v základním energetickém stavu v jednotce objemu absorbujícího plynu, l délka absorpčního prostředí. [13]

Koncentraci atomů v základním stavu lze ztotožnit s celkovou koncentrací prvku ve vzorku a tato koncentrace je přímo úměrná absorbanci.

2.2.2 Experimentální uspořádání

Atomový absorpční spektrometr má čtyři základní části: zdroj primárního záření, absorpční prostředí, disperzní systém a detekční systém. Schéma přístroje pro AAS znázorňuje Obr. 2.1.



Obr. 2.1: Schéma atomového absorpčního spektrometru. Ze zdroje primárního záření je emitováno záření o určité vlnové délce (Φ_0), při průchodu absorpčním prostředím s volnými atomy stanovovaného prvku dojde k jeho zeslabení (Φ). Zeslabené záření prochází disperzním systémem na detektor.

Zdroje primárního záření

Nejčastějším zdrojem primárního záření jsou výbojky s dutou katodou (HCL, z anglického Hollow Cathode Lamp). Jsou to evakuované baňky ze skla se zatavenými elektrodami s výstupním okénkem pro průchod záření. Dutá katoda je buď vyrobena ze stejného kovu jako analyt, nebo je na nosné katodě upevněna folie ze stejného kovu jako analyt. Anoda je vyrobena z kovu s vysokou teplotou tání. Výbojky jsou naplněné

vzácným plynem, nejčastěji argonem nebo neonem. Mezi katodu a anodu je vloženo napětí, tím dojde k ionizaci vzácného plynu. Kladně nabité ionty vzácného plynu bombardují povrch katody a vyrážejí z ní atomy kovu. Atomy kovu jsou excitovány srážkami s ionty a při deexcitaci emitují záření. [14]

Prvky absorbují záření o vlnové délce, které jsou samy schopny vyzařovat. Proto se pro každý stanovovaný prvek musí používat jiná výbojka s dutou katodou.

Další možností jsou bezelektrodové výbojky nebo laditelné barvivové lasery. [15]

Absorpční prostředí, atomizátor

Atomizátor převádí stanovovaný prvek ze vzorku do plynného stavu a uvolňuje jeho atomy.

Podle způsobu atomizace analyzovaného prvku rozlišujeme několik druhů atomové absorpční spektrometrie: F-AAS (atomizace v plamenu), ETA-AAS (atomizace elektrotermicky), HG-AAS (atomizace generováním hydridů). [9]

Při plamenové atomizaci se používá plamen složený ze směsi paliva (nejčastěji acetylen) a okysličovadla (vzduch, oxid dusný). Na použitém okysličovadle závisí maximální teplota plamene. Do hořáku s plamenem se pomocí pneumatických zmlžovačů přivádí vzorek, ze kterého je vytvořen aerosol, ten se mísí s topnými plyny a uvolňují se jednotlivé atomy. [16]

Elektrotermická atomizace se provádí v malých odporově vyhřívaných kyvetách. Tyto kyvety jsou vyrobeny z elektricky vodivého materiálu a jsou mechanicky i chemicky stálé i při vysokých teplotách. Kyveta je vyhřívána na teplotu potřebnou pro atomizaci analytu průchodem elektrického proudu. [14]

Při technice generování hydridů se nejprve převede analyt chemickou reakcí na těkavou sloučeninu, nejčastěji hydrid. Těkavá sloučenina je pak atomizována ve speciálním křemenném atomizátoru. Tato metoda je použitelná pouze pro analyty, které tvoří hydridy. [9]

Disperzní systém

Disperzní systém slouží k izolaci spektrálního intervalu, ve kterém se nachází příslušná absorpční čára sledovaného prvku. K tomuto účelu se v AAS používají monochromátory, není u nich nutná vysoká rozlišovací schopnost, protože již zdroj primárního záření produkuje čárové spektrum. [15]

Detekční systém

Detektor záření je zařízení, které převádí energii záření na jinou formu energie, kterou je možné jednoduchým způsobem změřit.

Nejpoužívanějším detektorem je fotonásobič, který registruje proud vyvolaný dopadem záření. Záření prochází dovnitř fotonásobiče, tam dopadá na fotokatodu, z ní vyrazí elektron, který je urychlen elektrickým polem a dopadá na dynodu-pomocnou elektrodu, z níž se vyrazí několik sekundárních elektronů. Celý proces se několikrát opakuje, pak dopadnou znásobené elektrony na anodu. [13]

2.2.3 Využití

Atomová absorpční spektrometrie je vysoce selektivní metoda, proto je dnes jednou ze základních metod pro stanovení prvků ve vzorcích. Tato metoda je vhodná pro elementární kvantitativní stanovení asi 60-70 prvků, které se snadno atomizují, převážně kovů, a to bez předchozí separace. Vzorky nemusí být pouze vodné roztoky, mohou být použita i jiná rozpouštědla a při elektrotermické atomizaci lze jako vzorek použít i suspenzi pevných látek nebo přímo pevný vzorek. [9, 12]

Pomocí metody AAS jsou analyzovány různorodé vzorky, například z oblasti medicíny, biologie, geologie, životního prostředí, potravinářství nebo zemědělství. [17]

2.3 Atomová emisní spektrometrie

Atomová emisní spektrometrie (zkráceně AES, nebo také optická emisní spektrometrie, zkráceně OES) je stejně jako AAS fyzikálně-chemická optická analytická metoda. Je založena na sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy látek v plynném stavu. AES stejně jako AAS nepatří mezi metody absolutní, ale mezi metody srovnávací, je nutné využití standardů, používá se metoda kalibrační křivky nebo metoda vnitřního standardu. [9, 12]

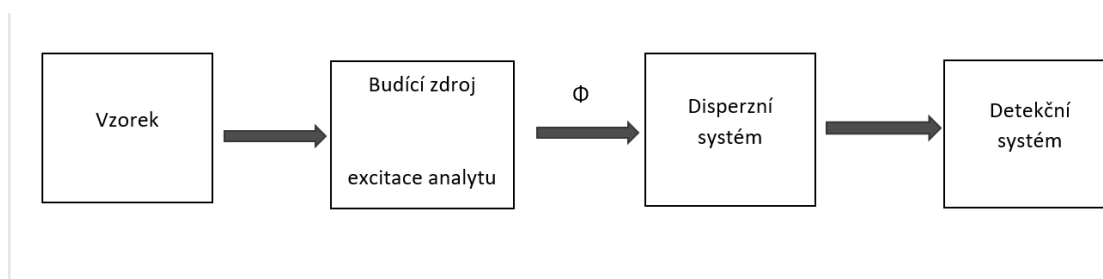
2.3.1 Princip metody

Zkoumaná látka je dodáním energie převedena do excitovaného stavu, ve kterém setrvá velmi krátce a dochází k deexcitaci spojené s emisí polychromatického nespojitého záření. Záření určitých vlnových délek je pro daný prvek charakteristické. Rozkladem tohoto vysílaného záření získáme čárové spektrum, poloha čar (jejich vlnová délka) má využití v kvalitativní analýze, intenzita čáry se používá v kvantitativní analýze. [15]

Počet čar ve spektru roste s počtem valenčních elektronů daného prvku. Spektra prvků se stejným počtem valenčních elektronů jsou si vzájemně podobná. Spektra alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin obsahují od několika jednotek po několik desítek čar, spektra železa nebo wolframu mají několik tisíc čar. [14]

2.3.2 Experimentální uspořádání

Atomový emisní spektrometr se skládá ze tří hlavních částí, z budícího zdroje, disperzního systému a detekčního systému. Schéma přístroje pro AES znázorňuje Obr. 2.2.



Obr. 2.2: Schéma atomového emisního spektrometru. V budícím zdroji je vzorek s analytem rozložen a excitován, při deexcitaci je emitováno charakteristické záření (Φ), to prochází disperzním systémem a je zachyceno detekčním systémem.

budící zdroje

V budícím zdroji je dodáním energie vzorek rozložen, atomizován a převeden do plynného prostředí, jeho atomy jsou excitovány a vysílají záření. Budící (excitační) energii lze dodat atomům analytů buď termicky vzájemnými srážkami nebo absorpcí záření. Využívány jsou plameny, plazma, elektrické výboje nebo lasery. [9, 14]

Plamen dosahuje nižších hodnot budící energie, proto ho není možné využít pro všechny prvky, vhodný je například pro analýzu alkalických kovů a kovů alkalických zemin. Výsledné spektrum je jednoduché a obsahuje méně spektrálních čar. Používají se různé typy hořáků, různá složení plamene (složení plamene ovlivňuje jeho teplotu), nejčastěji se používá plamen acetylen-vzduch. [15]

Plazmové zdroje jsou v dnešní době nejpoužívanější. Plazma je vysoce ionizovaný plyn, nejčastěji argon. Rozlišují se různé druhy plazmatu, například indukčně vázané plazma (ICP), které se používá i ve spojení s hmotnostní spektrometrií (metoda ICP-MS), plazma je zdroj iontů pro hmotnostní spektrometr. [18]

Buzení elektrickým výbojem je umožněno buď obloukem mezi dvěma elektrodami nebo jiskrou, je dosaženo vysokých budících energií, spektrum obsahuje více čar. S elektrickým výbojem jako budícím zdrojem je možné analyzovat i pevné vzorky-po

převedení do práškové formy se umísťují do dutiny nosné elektrody nebo pokud jsou vodivé a odolné proti vysokým teplotám, lze vzorek použít jako jednu z elektrod. [9]

optické části

Záření vzniklé deexcitací vzorku je polychromatické, vstupuje štěrbinou do optické části přístroje, kde je disperzním systémem rozloženo na monochromatické paprsky. Vzniká tak soubor monochromatických paprsků, které tvoří emisní spektrum dané látky. Z tohoto důvodu jsou na disperzní systém atomového emisního spektrometru kladeny vyšší nároky než na disperzní systém v atomovém absorpčním spektrometru. [15]

Disperzním prvek je hranol nebo mřížka, součástí optické části přístroje jsou ještě soustavy čoček nebo zrcadel, které vhodně soustředí a zaostří záření. [13]

Hranol je starším typem disperzních prvků. Hranol rozkládá polychromatické záření podle vlnové délky na základě lomu světla při průchodu hranolem. Hranoly bývají vyrobeny z materiálů s vysokým indexem lomu, mohou být jednoduché nebo tvořené více hranoly a v používané oblasti vlnových délek nesmí materiál hranolu absorbovat záření. [9]

Difrakční mřížka je tvořena deskou nebo zrcadlem z různých materiálů, do které je vyryt určitý počet stejně velkých a od sebe stejně vzdálených dokonale rovnoběžných vrypů. [9]

detektor

V dnešních atomových emisních spektrometrech je umožněna detekce jedním ze dvou způsobů: fotografická nebo fotoelektrická detekce. Subjektivní vizuální detekce se již nevyužívá, nejpoužívanější je detekce fotoelektrická. [14]

Při využití fotografické detekce je mírou intenzity spektrální čáry zčernání čáry na fotografické desce.

Fotoelektrická detekce je umožněna fotonásobičem, jeho princip byl již popsán u AAS.

2.3.3 Využití

Atomová emisní spektrometrie je vhodná jak pro kvalitativní, tak pro kvantitativní analýzu. Kvalitativní analýza spočívá v identifikaci analytů podle polohy jejich čar ve spektru, vlnové délky těchto čar jsou pro daný prvek přesně definovány a tabelovány, spektrální důkaz prvku je proto zcela specifický a absolutní. Častější využití je při

kvantitativní analýze, která využívá závislosti mezi koncentrací analytu a intenzitou jeho čáry. [19]

Plamenová fotometrie je často používaná v zemědělství, zdravotnictví, při výrobě hnojiv nebo při analýzách životního prostředí. [14]

2.4 Statistické vyhodnocení

Získané výsledky je třeba statisticky zpracovat. Pro soubor dat získaných opakovaným měřením je nejprve třeba určit jednu vypovídající hodnotu. Při menším počtu opakování ($n < 7$) se používá střední hodnota, takzvaný medián (\tilde{x}), pro větší počet opakování ($n > 7$) se používá aritmetický průměr (\bar{x}), který se spočítá podle vzorce

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

kde n je počet opakování daného měření a x_i je hodnota i -tého měření.

Rozptýlení jednotlivých hodnot x_i okolo průměru \bar{x} je charakterizováno hodnotou směrodatné odchylky (s), spočítá se podle vzorce

$$s = k_n \cdot R$$

kde k_n je tabelovaný koeficient pro daný počet měření a R variační rozpětí výsledků (rozdíl mezi největší a nejmenší naměřenou hodnotou).

Relativní směrodatná odchylka (s_r nebo také variační koeficient) porovnává směrodatnou odchylku s průměrem/mediánem, používá se k porovnání přesnosti dat v různých jednotkách, udává se většinou v procentech a vyjadřuje ji vzorec

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 [\%]$$

Interval spolehlivosti ($L_{1,2}$) vymezuje oblast, v níž se s určitou pravděpodobností nachází skutečná hodnota. Čím je interval spolehlivosti užší, tím jsou získané výsledky přesnější. Interval spolehlivosti se počítá podle vzorce

$$L_{1,2} = K_n \cdot R$$

kde K_n je tabelovaný koeficient pro daný počet opakování.

[20, 21, 22]

2.5 Základní charakteristiky měření

mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ)

Mez detekce je nejnižší detekovatelná koncentrace analytu ve vzorku, nestanovovaná kvantitativně. Odpovídá koncentraci, pro kterou je signál přístroje statisticky významně odlišný od šumu. Mez detekce (LOD) se spočítá podle vzorce

$$LOD = \frac{3 \cdot s}{a}$$

kde s je směrodatná odchylka z hodnot opakovaně naměřeného signálu šumu, a je směrnice kalibrační přímky.

Mez stanovitelnosti je nejnižší koncentrace analytu ve vzorku, kterou lze stanovit s dostatečnou přesností a správností. Mez stanovitelnosti (LOQ) se spočítá podle vzorce

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{a}$$

[23]

opakovatelnost

Opakovatelnost měření vyjadřuje shodnost výsledků při opakovaném měření, které provádí stejný operátor stejnou metodou, stejným přístrojem, na stejném místě a v co nejkratším časovém rozmezí. Opakovatelnost se získá jako relativní směrodatná odchylka opakovaného měření. [24]

citlivost

Citlivost metody je definována jako nejmenší rozdíl koncentrací, který lze ještě s určitou přípustnou nejistotou rozlišit. Vyjadřuje ji směrnice kalibrační přímky. [25]

lineární dynamický rozsah

Lineární dynamický rozsah je rozsah koncentrací, mezi kterými je kalibrační křivka lineární. Začíná hodnotou meze stanovitelnosti a končí hodnotou koncentrace, pro kterou má korelační koeficient dané přímky hodnotu vyšší nebo rovnu 0,98.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Používané přístroje a zařízení

- spektrofotometr GBC 933 AA (GBC Scientific Equipment, Austrálie)
- výbojky s dutou katodou (Varian Techtron, Austrálie) pro stanovení prvků: Li, Na, K, Mg, Ca
- přístroj pro výrobu deionizované vody Milli-Q PLUS (Millipore, USA)

3.2 Používané chemikálie

- standardní roztok lithia o koncentraci $1\,000 \pm 5$ mg/l (Merck, Německo)
- standardní roztok sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku o koncentraci $1,000 \pm 0,002$ g/l (Analytika, Česká republika)
- kyselina dusičná (65%, Lachner, Německo)
- deionizovaná voda
- stabilizační roztok pro F-AAS (5 ml 65% HNO_3 v 1 litru deionizované vody)

3.3 Postup práce

3.3.1 Příprava roztoků

Ze standardního roztoku každého prvku o koncentraci 1 g/l byla ředěním stabilizačním roztokem připravena řada osmi/sedmi roztoků, které byly dále použity pro optimalizaci podmínek a zjištění kalibrační závislosti (pro lithium, hořčík a vápník byla nejvyšší koncentrace připraveného roztoku 10 mg/l, pro sodík a draslík 25 mg/l). Po naměření koncentrací stanovovaných prvků v reálných vzorcích bylo zjištěno, že některé koncentrace analytů jsou příliš vysoké a leží mimo lineární rozsah kalibračních řad, bylo tedy potřeba snížit citlivost metody otočením hořáku o 90° a připravit kalibrační roztoky o vyšších koncentracích. Koncentrace jednotlivých roztoků udává Tab. 3.1

Tab. 3.1: koncentrace roztoků pro jednotlivé prvky

prvek	koncentrace roztoků [mg/l]									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Li	0,05	0,10	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	-	-
Na	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	25,0	50,0	100	-
K	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	25,0	50,0	100	-
Mg	0,10	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	25,0	50,0	-
Ca	0,10	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	25,0	50,0	100

3.3.2 Optimalizace

Pro každý prvek byly v připraveném roztoku o koncentraci 1 mg/l optimalizovány podmínky pro stanovení daného prvku metodou atomové absorpční a atomové emisní spektroskopie, optimalizované podmínky byly výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu. Neměnné podmínky byly pro každý prvek vlnová délka, šířka spektrálního intervalu, žhavicí proud výbojky a složení plamene. Tyto podmínky shrnuje Tab. 3.2.

Tab. 3.2: neměnné podmínky použité při optimalizaci metody i při dalších měřeních, jak pro metodu atomová absorpční spektrometrie, tak pro metodu atomová emisní spektrometrie

prvek	vlnová délka [nm]	šířka spektrálního intervalu [nm]	žhavicí proud výbojky [mA]	složení plamene
Li	670,8	1,0	5	acetylen-vzduch
Na	589,0	0,5	5	acetylen-vzduch
K	766,5	1,0	5	acetylen-vzduch
Mg	285,2	0,5	4	acetylen-vzduch
Ca	422,7	0,5	10	acetylen-oxid dusný

Každé měření pro optimalizaci podmínek bylo přístrojem provedeno třikrát, použita byla střední hodnota, takzvaný medián, doba jednoho měření byla 3 s.

3.3.3 Kalibrační závislost

Pro sady kalibračních roztoků každého prvku byly proměřeny kalibrační závislosti za udaných neměnných podmínek (Tab.3.2) a zjištěných optimálních podmínek, jak metodou absorpční, tak emisní spektroskopie, každé měření bylo provedeno přístrojem třikrát, pro sestavení kalibračních křivek byl použit medián, doba jednoho měření byla 3 s.

3.3.4 Určení základních charakteristik

Pro určení základních charakteristik, jako jsou například LOD a LOQ, byla v krátkém časovém intervalu dvacetkrát naměřena odezva přístroje pro roztok deionizované vody a pro roztok o vybrané koncentraci (pro Li, Na, K a Ca se jednalo o roztok o koncentraci 2,5 mg/l a pro Mg o roztok o koncentraci 0,5 mg/l). Základní charakteristiky byly poté spočítány a vyhodnoceny.

3.3.5 Přehled vzorků

Vzorky ovocných a zeleninových šťáv byly připraveny na katedře biochemie. Rostlinný materiál byl zvážen, nakrájen a odšťavněn, získaná šťáva byla přefiltrována přes dvě vrstvy gázy a byl změřen její objem. Filtrát byl následně centrifugován 30 minut při zrychlení 9 000 g a teplotě 4 °C. Vzorky byly dodány zmražené v plastových uzavřených

mikrozkumavkách o objemu 2 ml, objem jednotlivých vzorků byl přibližně 1,5 ml. Vzorky jsou očíslovány 1-38, celkem jich bylo 36, vzorky číslo 5 (josta) a 7 (bílý rybíz) podle původního seznamu nebyly dodány. Přehled vzorků s jejich číslem, názvem, surovou hmotností a objemem tekutiny po odšťavnění a odfiltrování znázorňuje Tab. 3.3.

Tab. 3.3: přehled analyzovaných vzorků

číslo vzorku	název	hmotnost [g]	objem tekutiny [ml]
1	meruňka	247,1	82
2	malina	127,3	40
3	jahoda	170,4	98
4	broskev	328,7	162
6	červený rybíz	125	32
8	višeň	83,8	27
9	kaki	321,8	26
10	nashi	331,6	135
11	máslová dýně	292,1	79
12	kiwi	267,5	144
13	rajče	280,2	148
14	pomeranč	334,7	157
15	citron	229,9	85
16	limetka	214,2	74
17	cuketa	281,9	111
18	mandarinka	217,8	103
19	avokádo	337,6	60
20	pomelo	389,2	95
21	grep	391,9	164
22	petržel	263,7	76
23	mrkev (obecná, setá)	234	92
24	kurkuma (kurkumovník dlouhý)	125,5	75
25	zázvor	230,9	136
26	červená řepa	362	146
27	cibule	282,5	141
28	miřík celer	311,8	80
29	hlávkový salát (locika setá)	166,5	79
30	kedluben (brukev zelná)	389,1	122
31	ledový salát (locika setá)	261,3	108
32	čínské zelí (brukev pekingská)	310,1	120
33	brokolice (brukev zelná)	322,1	59
34	galgán červený	183,7	57
35	ředkvička	250,5	96
36	špenát setý	129	46
37	ředkev bílá	448,8	159
38	galgán bílý	97,6	48

3.3.6 Úprava vzorků

Z každého vzorku bylo odebráno 0,5 ml a smícháno s 9,5 ml stabilizačního roztoku, tím vzniklo 10 ml každého vzorku, naředěného dvacetkrát.

3.3.7 Stanovení vybraných kovů ve vzorcích

Koncentrace stanovovaných prvků byla naměřena metodou absorpční spektroskopie za optimálních podmínek za využití kalibrační přímky ve dvacetkrát naředěných vzorcích. Každé měření bylo provedeno třikrát, čas jednoho měření byl 1 s.

V některých dvacetkrát naředěných vzorcích byla koncentrace některých stanovovaných prvků příliš vysoká. Konkrétně se jednalo u stanovení sodíku o vzorky 22, 23, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 35, 36, 37; u draslíku o vzorky 1, 2, 3, 4, 9, 10, 14, 15, 17, 18, 20, 32, 33; u hořčíku o všechny vzorky a u vápníku o vzorky 6, 8, 11, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 a 37. Pro tyto vzorky bylo potřeba snížit citlivost stanovení, proto byl hořák otočen o 90 °, tím se změnila citlivost a posunul se lineární dynamický rozsah, ke kalibraci byly použity roztoky o vyšších koncentracích a takto byla stanovena koncentrace analytů ve zmíněných vzorcích.

4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

4.1 Optimalizace podmínek

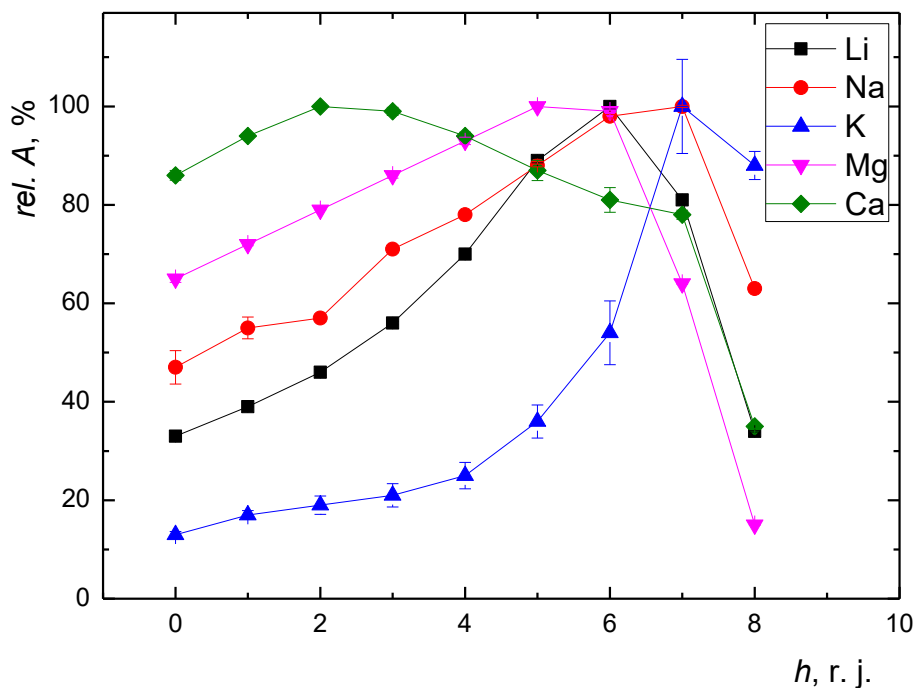
Optimalizovanými podmínkami byly pro všechny stanovované prvky výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu, jak pro metodu absorpční, tak emisní spektrometrie. Neměnné podmínky pro daný prvek byla vlnová délka, šířka spektrálního intervalu, žhavicí proud výbojky a použitý plamen. Pro všechny prvky byl k optimalizaci použit roztok o koncentraci 1 mg/l.

Atomová absorpční spektrometrie

Výška paprsku nad hranou hořáku

Pro každý prvek byly proměřeny odezvy (absorbance pro absorpční spektrometrii) při různých výškách paprsku nad hranou hořáku. Možné hodnoty byly od 0 do 8, nastavení se měnilo vždy po jednotce. Naměřené hodnoty absorbance pro daný prvek byly přepočítány na relativní absorbance v procentech.

Nejvyšší relativní absorbance pro AAS pro lithium bylo dosaženo s výškou paprsku nad hranou hořáku 6, pro sodík 7, pro draslík 7, pro hořčík 5 a pro vápník 2. Stanovení vápníku ale probíhá za složení plamene acetylen-oxid dusný, kdežto stanovení ostatních analytů za složení acetyl-vzduch, proto se optimální výška paprsku tak výrazně liší. Závislost relativní absorbance na výšce paprsku pro metodu absorpční spektroskopie znázorňuje Obr. 4.1.



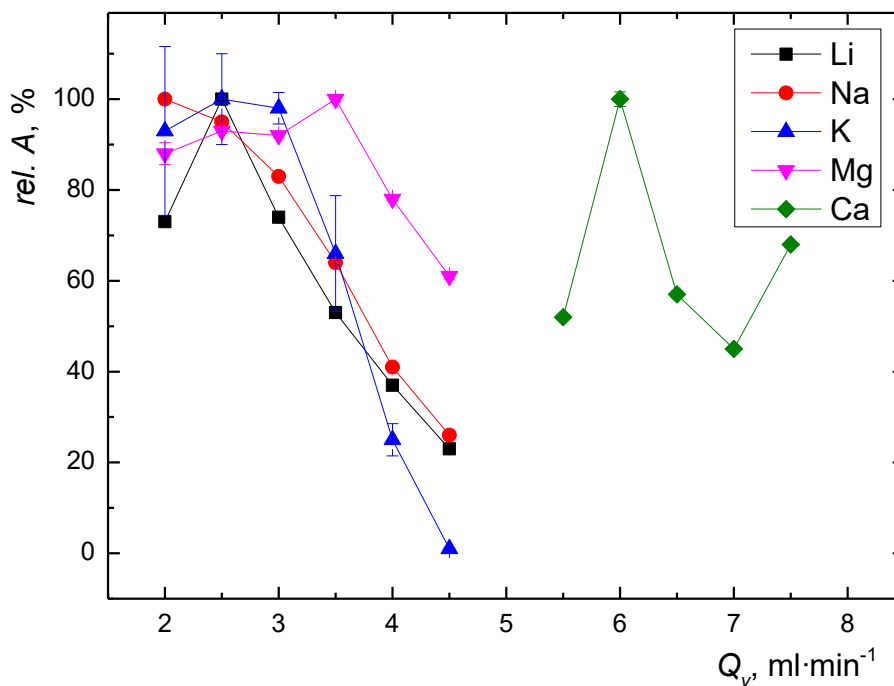
Obr. 4.1: Závislost relativní absorbance na výšce paprsku nad hranou hořáku metodou absorpční spektrometrie

Zjištěné optimální hodnoty výšky paprsku nad hranou hořáku byly použity pro další krok optimalizace, a to pro průtokovou rychlost acetyleny.

Průtoková rychlost acetyleny

Druhým optimalizovaným parametrem byla průtoková rychlost acetyleny. Zkoušené průtokové rychlosti acetyleny byly od 2 do 4,5 ml·min⁻¹ pro plamen acetylen-vzduch a 5,5 až 7,5 ml·min⁻¹ pro plamen acetylen-oxid dusný, nastavení se měnilo po půl jednotce. Naměřené absorbance byly stejně jako u výšky plamene přepočítány na procenta.

Nejvyšší relativní absorbance pro AAS pro lithium bylo dosaženo s průtokovou rychlostí acetyleny 2,5 ml·min⁻¹, pro sodík 2 ml·min⁻¹, pro draslík 2,5 ml·min⁻¹, pro hořčík 3,5 ml·min⁻¹ a pro vápník 6 ml·min⁻¹. Závislost relativní absorbance na průtokové rychlosti acetyleny pro metodu absorpční spektroskopie znázorňuje Obr. 4.2.



Obr. 4.2: Závislost relativní absorbance na průtokové rychlosti acetyleny metodou absorpční spektrometrie

Zjištěné optimální podmínky byly použity pro všechna další měření a shrnuje je Tab. 4.1.

Tab. 4.1: Shrnutí optimálních podmínek pro stanovení vybraných prvků metodou absorpční spektrometrie

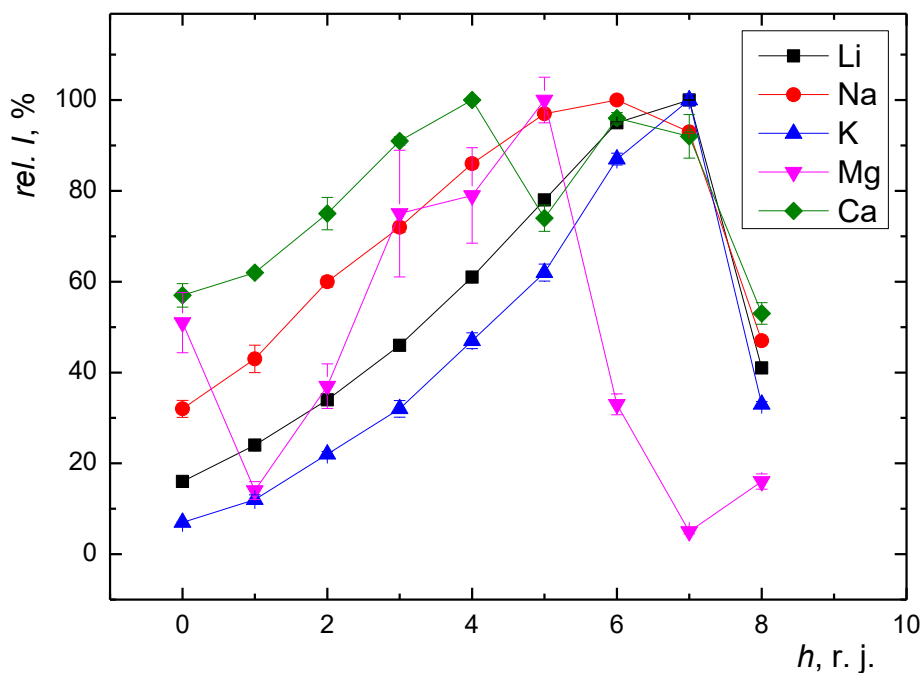
prvek	optimální podmínky	
	h	Q _v [ml·min ⁻¹]
Li	6	2,5
Na	7	2,0
K	7	2,5
Mg	5	3,5
Ca	2	6,0

Atomová emisní spektrometrie

Výška paprsku nad hranou hořáku

Pro každý prvek byly proměřeny odezvy (intenzita pro emisní spektrometrii) při různých výškách paprsku nad hranou hořáku. Možné hodnoty byly od 0 do 8, nastavení se měnilo vždy po jednotce. Naměřené hodnoty intenzity pro daný prvek byly přepočítány na relativní intenzity.

Nejvyšší odezvy pro AES pro lithium bylo dosaženo s výškou paprsku nad hranou hořáku 7, pro sodík 6, pro draslík 7, pro hořčík 5 a pro vápník 4. Závislost relativní intenzity na výšce paprsku nad hranou hořáku pro metodu emisní spektroskopie znázorňuje Obr. 4.3.



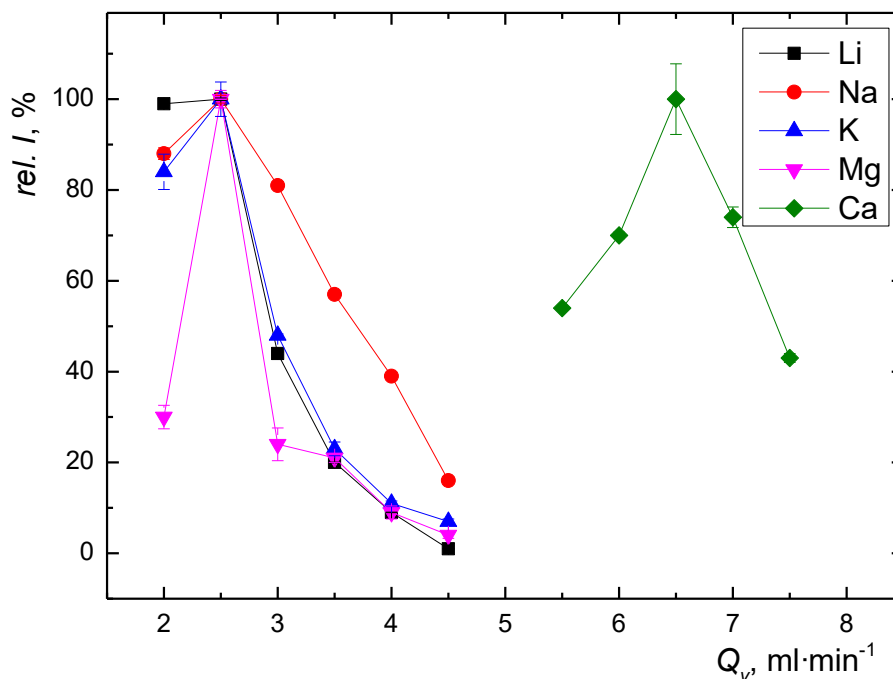
Obr. 4.3: Závislost relativní intenzity na výšce paprsku nad hranou hořáku metodou emisní spektrometrie

Zjištěné optimální hodnoty výšky plamene byly použity pro další krok optimalizace, a to pro průtokovou rychlost acetyleny.

Průtoková rychlost acetyleny

Druhým optimalizovaným parametrem byla průtoková rychlost acetyleny. Zkoušené průtokové rychlosti acetyleny byly od 2 do 4,5 ml·min⁻¹ pro plamen acetylen-vzduch a 5,5 až 7,5 ml·min⁻¹ pro plamen acetylen-oxid dusný, nastavení se měnilo po půl jednotce. Naměřené hodnoty intenzity byly přepočítány na relativní intenzity.

Nejvyšší odezvy pro AES pro lithium bylo dosaženo s průtokovou rychlostí acetyleny 2,5 ml·min⁻¹, pro sodík 2,5 ml·min⁻¹, pro draslík 2,5 ml·min⁻¹, pro hořčík 2,5 ml·min⁻¹ a pro vápník 6,5 ml·min⁻¹. Závislost relativní intenzity na průtokové rychlosti acetyleny pro metodu emisní spektroskopie znázorňuje Obr. 4.4.



Obr. 4.4: Závislost relativní intenzity na průtokové rychlosti acetyleny metodou emisní spektrometrie

Optimální hodnoty výšky plamene i průtoku acetyleny byly použity pro další měření a shrnuje je Tab. 4.2.

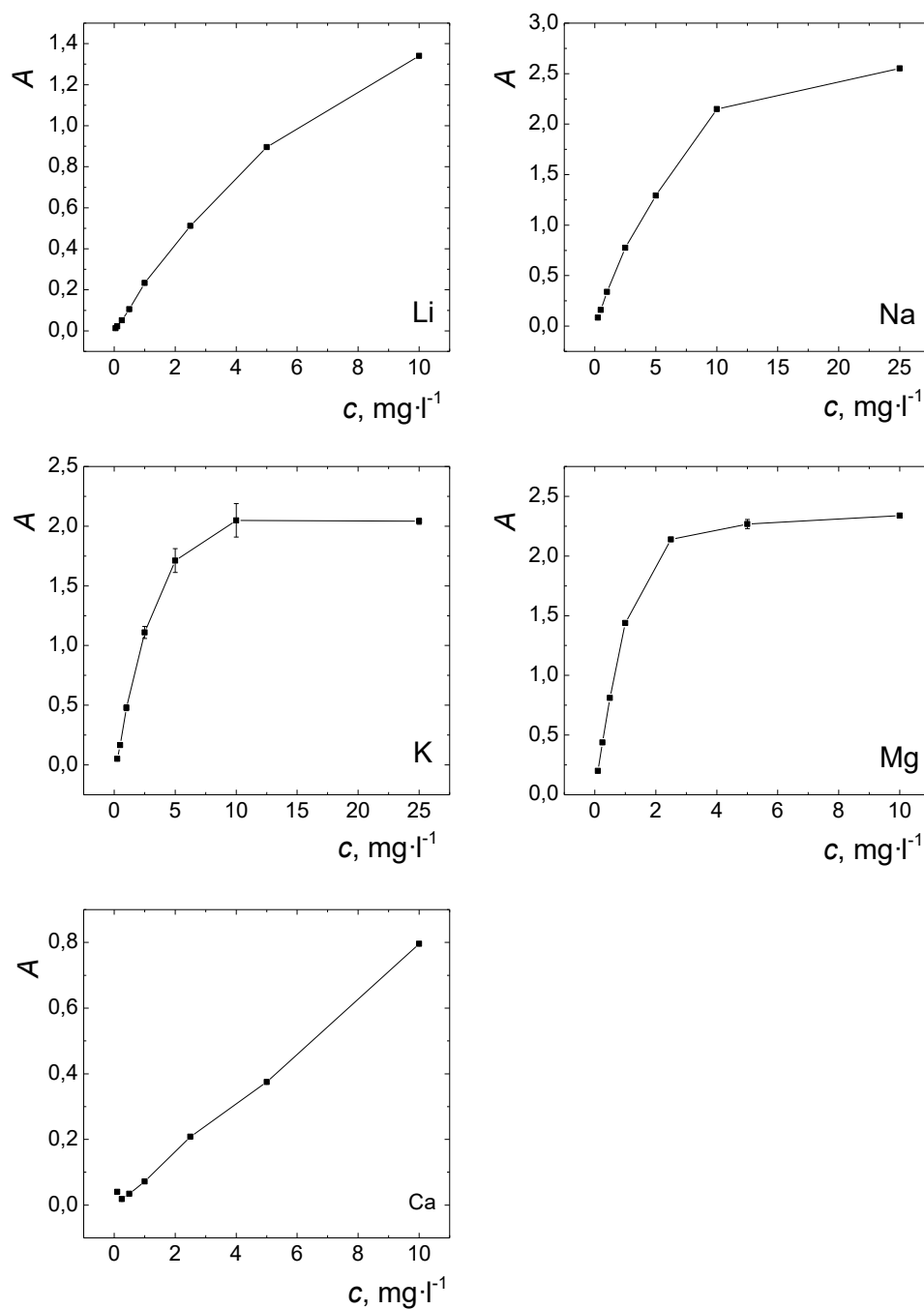
Tab. 4.2: Shrnutí optimálních podmínek pro stanovení vybraných prvků metodou emisní spektrometrie

prvek	optimální podmínky	
	h	Q _v [ml·min ⁻¹]
Li	7	2,5
Na	6	2,5
K	7	2,5
Mg	5	2,5
Ca	4	6,5

4.2 Kalibrační závislost

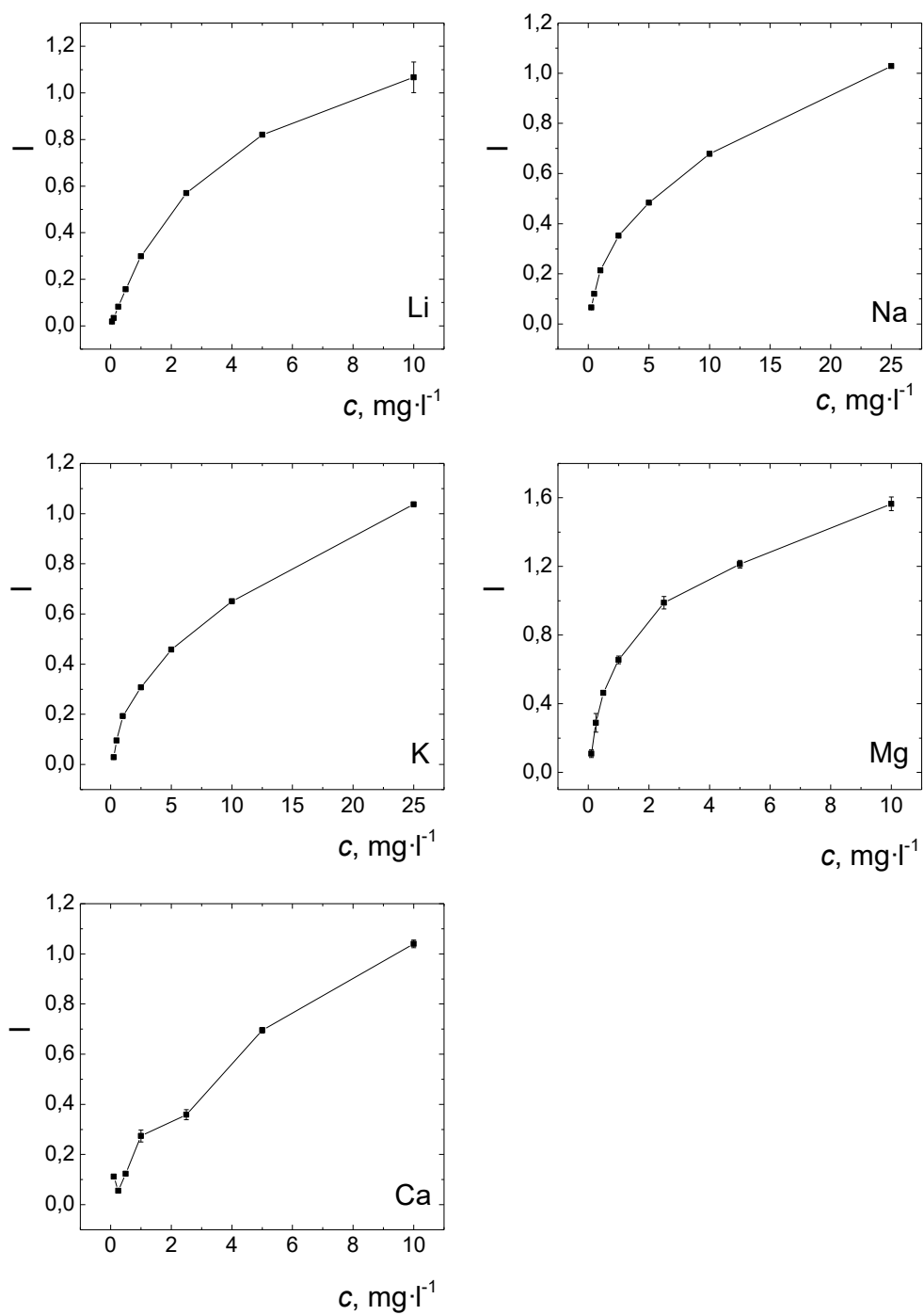
Za optimálních podmínek byly proměřeny absorbance jednotlivých roztoků z kalibračních řad, jak pro metodu atomové absorpční i emisní spektrometrie. Ze získaných hodnot absorbancí a intenzit byly sestaveny grafy závislosti absorbance/intenzity na koncentraci příslušného roztoku. Tyto závislosti znázorňuje Obr. 4.5 pro atomovou absorpční spektrometrii a Obr. 4.6 pro atomovou emisní spektrometrii.

Atomová absorpční spektrometrie



Obr. 4.5: Kalibrační závislosti pro jednotlivé prvky metodou atomové absorpční spektrometrie

Atomová emisní spektrometrie



Obr. 4.6: Kalibrační závislost pro jednotlivé prvky metodou atomové emisní spektrometrie

4.3 Určení základních charakteristik

Jednotlivé základní charakteristiky pro metodu atomové absorpční spektrometrie shrnuje Tab. 4.3 a pro metodu atomové emisní spektrometrie Tab. 4.4.

Atomová absorpční spektrometrie

Tab. 4.3: přehled základních charakteristik pro stanovení jednotlivých kovů metodou absorpční spektrometrie

charakteristika	Li	Na	K	Mg	Ca
LOD [mg/l]	0,023	0,010	0,024	0,001	0,083
LOQ [mg/l]	0,076	0,034	0,080	0,005	0,278
opakovatelnost [%]	0,74	0,35	2,51	0,56	4,49
citlivost [l/mg]	0,2103	0,3143	0,4429	1,4924	0,0811
	^a	0,0365 ^a	0,0587 ^a	0,0516 ^a	0,0144 ^a
lineární dynamický rozsah do [mg/l]	10,0	10,0	5,0	1,0	10,0
	^a	25,0 ^a	50,0 ^a	50,0 ^a	100,0 ^a
pracovní rozsah do [mg/l]	10,0	100,0	100,0	50,0	100,0

^a platí pro měření s hořákem otočeným o 90 °

Atomová emisní spektrometrie

Tab. 4.4: přehled základních charakteristik pro stanovení jednotlivých kovů metodou emisní spektrometrie

charakteristika	Li	Na	K	Mg	Ca
LOD [mg/l]	0,003	0,004	0,006	0,172	0,006
LOQ [mg/l]	0,011	0,014	0,019	0,572	0,021
opakovatelnost [%]	0,74	0,92	3,04	10,24	1,87
citlivost [l/mg]	0,3178	0,2213	0,1891	0,9757	0,2661
lineární dynamický rozsah do [mg/l]	2,5	2,5	1,0	0,5	10,0
pracovní rozsah do [mg/l]	10,0	25,0	25,0	10,0	10,0

LOD a LOQ pro metodu atomové emisní spektrometrie byly nižší než pro metodu atomové absorpční spektrometrie, ale opakovatelnost měření, citlivost a lineární rozsah byly pro většinu stanovovaných prvků lepší u metody atomové absorpční spektrometrie. Proto byla pro stanovení vybraných kovů v reálných vzorcích vybrána metoda atomové absorpční spektrometrie.

4.4 Obsah kovů ve vzorcích

Hodnoty koncentrace kovů byly vyhodnocené přístrojem a poté vynásobeny dvacetkrát (kvůli ředění původních vzorků), tím byly získány koncentrace v původních vzorcích a shrnuje je Tab. 4.5.

Tab. 4.5: přehled naměřených koncentrací jednotlivých kovů ve vzorcích metodou absorpční spektrometrie

vzorek		koncentrace analytu [mg/l]				
číslo	název	Li	Na	K	Mg	Ca
1	meruňka	<LOD	6,40 ± 0,070	100 ^a	87,8 ± 2,0	54,6 ± 0,51
2	malina	<LOD	10,0 ± 0,077	67,5 ± 2,3	228 ± 3,2	91,0 ± 0,49
3	jahoda	<LOD	5,60 ± 0,015	79,7 ± 0,16	123 ± 2,3	82,2 ± 0,34
4	broskev	<LOD	0,800 ± 0,016	93,9 ± 2,9	71,0 ± 0,69	15,8 ± 0,34
6	červený rybíz	<LOD	12,6 ± 0,16	106 ± 4,6	75,0 ± 1,2	108 ± 3,3
8	višeň	<LOD	6,40 ± 0,072	105 ± 2,5	252 ± 2,4	156 ± 2,4
9	khaki	0,120 ± 0,017	13,2 ± 0,20	106 ± 0,85	64,4 ± 0,97	22,8 ± 1,6
10	nashi	<LOD	2,60 ± 0,022	76,0 ± 1,4	67,4 ± 2,6	13,4 ± 0,080
11	máslová dýně	<LOD	1,80 ± 0,073	106 ± 2,9	252 ± 2,5	270 ± 5,4
12	kiwi	<LOD	27,0 ± 0,41	107 ± 2,2	62,6 ± 0,33	56,6 ± 1,1
13	rajče	<LOD	10,0 ± 0,12	108 ± 9,8	64,0 ± 1,1	21,0 ± 0,15
14	pomeranč	<LOD	3,20 ± 0,032	74 ^a	83,4 ± 1,2	109 ± 1,6
15	citron	0,0600 ± 0,017	21,4 ± 0,35	97,6 ± 0,78	186 ± 6,6	253 ± 2,0
16	limetka	<LOD	7,80 ± 0,14	109 ± 3,0	171 ± 4,3	269 ± 9,0
17	cuketa	<LOD	2,00 ± 0,076	93,2 ^a	185 ± 0,90	191 ± 2,2
18	mandarinka	<LOD	8,00 ± 0,17	81,2 ± 1,4	169 ± 2,0	145 ± 1,9
19	avokádo	0,400 ± 0,042	98,4 ± 1,4	108 ± 3,2	169 ± 8,5	109 ± 1,5
20	pomelo	<LOD	2,20 ± 0,0075	60,3 ^a	100 ± 2,1	162 ± 4,4
21	grep	<LOD	2,40 ± 0,070	107 ± 3,6	96,4 ± 1,6	149 ± 1,7
22	petržel	<LOD	1,70·10 ³ ± 11	110 ± 3,0	387 ± 1,5	98,4 ± 2,1
23	mrkev	<LOD	234 ± 5,7	103 ± 4,8	182 ± 4,1	43,4 ± 0,40
24	kurkuma	<LOD	13,8 ± 0,41	103 ± 1,6	161 ± 0,84	5,20 ± 0,099
25	zázvor	<LOD	83,2 ± 0,42	106 ± 8,3	269 ± 0,46	10,6 ± 0,99
26	červená řepa	<LOD	126 ± 2,4	110 ± 2,7	210 ± 3,3	49,4 ± 1,2
27	cibule	<LOD	17,6 ± 0,15	103 ± 3,0	86,0 ± 0,78	152 ± 3,2
28	celer	<LOD	1,03·10 ³ ± 21	98,8 ± 2,3	249 ± 1,2	292 ± 4,2
29	hlávkový salát	<LOD	153 ± 7,6	107 ± 5,0	283 ± 1,4	597 ± 25
30	kedluben	<LOD	18,8 ± 0,36	99,6 ± 1,6	175 ± 2,5	221 ± 5,9
31	ledový salát	<LOD	30,0 ± 0,31	104 ± 1,6	80,0 ± 1,8	185 ± 3,8
32	čínské zelí	<LOD	163 ± 0,90	97,9 ± 2,2	110 ± 1,6	278 ± 7,6
33	brokolice	<LOD	296 ± 17	135 ± 0,54	306 ± 2,3	143 ± 2,3
34	galgán červený	0,100 ± 0,014	59,4 ± 0,23	109 ± 2,2	358 ± 6,6	5,80 ± 0,17
35	ředkvička	<LOD	192 ± 5,2	109 ± 2,8	110 ± 2,4	76,2 ± 0,77
36	špenát	<LOD	186 ± 11	103 ± 1,6	410 ± 1,1	3,60 ± 0,022
37	ředkev bílá	<LOD	272 ± 4,2	105 ± 1,3	124 ± 2,4	157 ± 4,6
38	galgán bílý	0,0800 ± 0,0083	74,6 ± 1,1	105 ± 3,9	357 ± 5,8	4,40 ± 0,084

^a z důvodu nedostatku vzorku bylo provedeno pouze jedno měření, proto není uveden interval spolehlivosti

Koncentrace jednotlivých kovů byla z mg/l přepočítána ještě na µg/g dané zeleniny nebo ovoce. Tyto koncentrace znázorňuje Tab. 4. 6.

Tab. 4.6: Přehled přepočítaných koncentrací jednotlivých prvků ve vzorcích

vzorek		koncentrace analytu [$\mu\text{g/g}$]				
číslo	název	Li	Na	K	Mg	Ca
1	meruňka	-	$2,12 \pm 0,023$	$33,2^a$	$29,1 \pm 0,66$	$18,1 \pm 0,17$
2	malina	-	$3,14 \pm 0,024$	$21,2 \pm 0,72$	$71,6 \pm 1,0$	$28,6 \pm 0,15$
3	jahoda	-	$3,22 \pm 0,0086$	$45,8 \pm 0,092$	$70,7 \pm 1,3$	$47,3 \pm 0,20$
4	broskev	-	$0,394 \pm 0,0079$	$46,3 \pm 1,4$	$35,0 \pm 0,34$	$7,79 \pm 0,17$
6	červený rybíz	-	$3,23 \pm 0,041$	$27,1 \pm 1,2$	$19,2 \pm 0,31$	$27,6 \pm 0,85$
8	višeň	-	$2,06 \pm 0,023$	$33,8 \pm 0,81$	$81,2 \pm 0,77$	$50,3 \pm 0,77$
9	khaki	$(9,70 \pm 1,4) \cdot 10^{-3}$	$1,07 \pm 0,016$	$8,56 \pm 0,069$	$5,20 \pm 0,078$	$1,84 \pm 0,13$
10	nashi	-	$1,06 \pm 0,0090$	$30,9 \pm 0,57$	$27,4 \pm 1,1$	$5,46 \pm 0,033$
11	máslová dýně	-	$0,487 \pm 0,020$	$28,7 \pm 0,78$	$68,2 \pm 0,68$	$73,0 \pm 1,5$
12	kiwi	-	$14,5 \pm 0,22$	$57,6 \pm 1,2$	$33,7 \pm 0,18$	$30,5 \pm 0,59$
13	rajče	-	$5,28 \pm 0,063$	$57,0 \pm 5,2$	$33,8 \pm 0,58$	$11,1 \pm 0,079$
14	pomeranč	-	$1,50 \pm 0,015$	$34,7^a$	$39,1 \pm 0,56$	$51,1 \pm 0,75$
15	citron	$(2,22 \pm 0,63) \cdot 10^{-2}$	$7,91 \pm 0,13$	$36,1 \pm 0,29$	$68,8 \pm 2,4$	$93,5 \pm 0,74$
16	limetka	-	$2,69 \pm 0,048$	$37,7 \pm 1,0$	$59,1 \pm 1,5$	$92,9 \pm 3,1$
17	cuketa	-	$0,788 \pm 0,030$	$36,7^a$	$72,8 \pm 0,35$	$75,2 \pm 0,87$
18	mandarinka	-	$3,78 \pm 0,080$	$38,4 \pm 0,66$	$79,9 \pm 0,95$	$68,6 \pm 0,90$
19	avokádo	$(7,11 \pm 0,75) \cdot 10^{-2}$	$17,5 \pm 0,25$	$19,2 \pm 0,57$	$30,0 \pm 1,5$	$19,4 \pm 0,27$
20	pomelo	-	$0,537 \pm 0,0018$	$14,7^a$	$24,4 \pm 0,51$	$39,5 \pm 1,1$
21	grep	-	$1,00 \pm 0,029$	$44,8 \pm 1,5$	$40,3 \pm 0,67$	$62,4 \pm 0,71$
22	petržel	-	$490 \pm 3,2$	$31,7 \pm 0,87$	$112 \pm 0,43$	$28,4 \pm 0,61$
23	mrkev	-	$92,0 \pm 2,2$	$40,5 \pm 1,9$	$71,6 \pm 1,6$	$17,1 \pm 0,16$
24	kurkuma	-	$8,25 \pm 0,25$	$61,6 \pm 0,96$	$96,2 \pm 0,50$	$3,11 \pm 0,059$
25	zázvor	-	$49,0 \pm 0,25$	$62,4 \pm 0,25$	$158 \pm 0,27$	$6,24 \pm 0,58$
26	červená řepa	-	$50,8 \pm 0,97$	$44,4 \pm 1,1$	$84,7 \pm 1,3$	$19,9 \pm 0,48$
27	cibule	-	$8,78 \pm 0,075$	$51,4 \pm 1,5$	$42,9 \pm 0,39$	$75,9 \pm 1,6$
28	celer	-	$264 \pm 5,4$	$25,3 \pm 0,56$	$63,9 \pm 0,31$	$74,9 \pm 1,1$
29	hlávkový salát	-	$72,6 \pm 3,6$	$50,8 \pm 2,4$	$134 \pm 0,66$	283 ± 12
30	kedluben	-	$5,89 \pm 0,11$	$31,2 \pm 0,50$	$54,9 \pm 0,78$	$69,3 \pm 1,9$
31	ledový salát	-	$12,4 \pm 0,13$	$43,0 \pm 0,66$	$33,1 \pm 0,74$	$76,5 \pm 1,6$
32	čínské zelí	-	$63,1 \pm 0,35$	$37,9 \pm 0,85$	$42,6 \pm 0,62$	$108 \pm 2,9$
33	brokolice	-	$54,2 \pm 3,1$	$24,7 \pm 0,099$	$56,1 \pm 0,42$	$26,2 \pm 0,42$
34	galgán červený	$(3,10 \pm 0,43) \cdot 10^{-2}$	$18,4 \pm 0,071$	$33,8 \pm 0,68$	$111 \pm 2,0$	$1,80 \pm 0,053$
35	ředkvička	-	$73,6 \pm 2,0$	$41,8 \pm 1,1$	$42,2 \pm 0,92$	$29,2 \pm 0,30$
36	špenát	-	$66,3 \pm 3,9$	$36,7 \pm 0,57$	$146 \pm 0,39$	$1,28 \pm 0,0080$
37	ředkev bílá	-	$96,4 \pm 1,5$	$37,2 \pm 0,46$	$43,9 \pm 0,85$	$55,6 \pm 1,6$
38	galgán bílý	$(3,93 \pm 0,41) \cdot 10^{-2}$	$36,7 \pm 0,54$	$51,6 \pm 1,9$	$176 \pm 2,9$	$2,16 \pm 0,041$

^a z důvodu nedostatku vzorku bylo provedeno pouze jedno měření, proto není uveden interval spolehlivosti

Obsah lithia ve většině vzorků je nižší než mez detekce (0,023 mg/l, označeno <LOD), nejvyšší koncentrace lithia byla naměřena ve vzorku číslo 19, jedná se o extrakt z avokáda, koncentrace lithia je v něm 0,4 mg/l a 71,1 pg/g.

Nejvyšší koncentrace sodíku byla naměřena ve vzorcích 22 a 28, jedná se o extrakty petržele a celeru, kde koncentrace dosahuje řádu $1 \cdot 10^3$ mg/l a stovek $\mu\text{g/g}$.

Nejvyšší koncentrace draslíku dosahuje o řád nižších hodnot než nejvyšší koncentrace sodíku, byla naměřena ve vzorku 33, tedy v extraktu brokolice, kde je koncentrace draslíku 135 mg/l. V přepočtu na gram rostlinného materiálu byla zjištěna nejvyšší koncentrace draslíku v kurkumě a zázvoru, kde je spočítaná koncentrace nad 60 $\mu\text{g/g}$.

Nejvyšší koncentrace hořčíku byla naměřena ve vzorku 36, což je extrakt špenátu.

Koncentrace vápníku dosahuje řádově stejných hodnot jako u hořčíku, od jednotek po stovky mg/l a nejvyšší koncentrace vápníku byla naměřena ve vzorku 29, jedná se o extrakt z hlávkového salátu, přepočítaná koncentrace je nejvyšší v extraktu čínského zelí.

Obecně lze říci, že koncentrace stanovovaných prvků jsou vyšší v zeleninových extraktech než v ovocných extraktech.

5 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byly změřeny koncentrace vybraných prvků (lithia, sodíku, draslíku, hořčíku a vápníku) ve 36 vzorcích ovocných a zeleninových šťáv metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací.

První část práce byla věnována nalezení optimálních podmínek pro stanovení jednotlivých prvků. Nejprve byla optimalizována výška paprsku nad hranou hořáku, poté průtoková rychlost acetyleny. Za optimálních podmínek byly poté zjištěny základní charakteristiky stanovení jednotlivých prvků.

Optimalizace podmínek a zjištění základních charakteristik bylo provedeno jak pro metodu atomové absorpční spektrometrie, tak pro metodu atomové emisní spektrometrie, zjištěné hodnoty byly porovnány a jako vhodná metoda pro analýzu reálných vzorků byla vybrána atomová absorpční spektrometrie.

Druhá část práce spočívala ve vhodném naředění všech reálných vzorků stabilizačním roztokem, vzorky byly naředěny dvacetkrát.

Třetí část práce byla věnována stanovení vybraných prvků v naředěných vzorcích ovocných a zeleninových šťáv.

Cíle bakalářské práce byly tedy splněny.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Racek, J.: *Klinická biochemie*, Galén a Karolinu, Praha, 1999
- [2] Hajek, T.; Weiner, M., W.: Neuroprotective Effects of Lithium in Human Brain? Food for Thought, *Current Alzheimer Research*, 13:8, 862-872, 2016
- [3] Becerra-Palars, C.; Amado-Lerma, J.; Andrade, A.; Campuzano, R.; Montemayor, E.: Neuroprotective Effects of Lithium in Patients with Bipolar Disorder, *Current Psychopharmacology*, 4:2, 96-102, 2015
- [4] Velíšek, J.; Hajšlová, J.: *Chemie potravin I.*, Osis, Tábor, 2009
- [5] Kasper, H.: *Výživa v medicíně a dietetika*, nakladatelství Grada Publishing, Praha, 2015
- [6] Habermann, V.: *Lékařská chemie, vybrané kapitoly*, Karolinum, Praha, 2004
- [7] Porsti, I.; Makynen, H.: Dietary calcium intake: Effects on central blood pressure control, *Seminars in Nephrology*, 15:6, 550-63, 1995
- [8] Nordin, B. E. Ch.: Calcium and osteoporosis, *Nutrition*, 13: 7/8, 664-686, 1997
- [9] Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*, Praha, Karolinum, 2004
- [10] Diop, A.; Boaretto, A.; Pastore, P.: Determination of alkali metals and inorganic anions in baobab (*Adansonia digitata*) fruit by ion chromatography, *Journal de la Societe Ouest-Africaine de Chimie*, 1:1, 30-37, 1996
- [11] Shi, Y., C.; Fritz, J., S.: New electrolyte systems for the determination of metal-cations by capillary zone electrophoresis, *Journal of chromatography A*, 671:1-2, 429-435, 1994
- [12] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*, Pavel Klouda, Ostrava, 2003
- [13] Jandera, P.: *Atomová a molekulová spektroskopie*, Vysoká škola chemicko-technologická v Pardubicích, Pardubice, 1984
- [14] Černohorský, T.; Jandera, P.: *Atomová spektroskopie*, Univerzita Pardubice, Pardubice, 1997
- [15] Stůžka, V.: *Analytická atomová optická spektrometrie*, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 2000

- [16] Wu, P.; He, S., P.; Luo, B.; Hou, X., D.: Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry: A Review, *Applied spectroscopy reviews*, 44:5, 411-437, 2009
- [17] Pavelka, J.: *Využití atomové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědělské praxi*, Středisko technických informací potravinářského průmyslu, Praha, 1990
- [18] Sneddon, J.; Vincent, M., D.: ICP-OES and ICP-MS for the determination of metals: Application to oysters, *Analytical Letters*, 41:8, 1291-1303, 2008
- [19] Holzbecher, Z.; Churáček, J.: *Analytická chemie*, SNTL, Praha, 1987
- [20] Hendl, J.: *Přehled statistických metod zpracování dat*, Portál, Praha, 2004
- [21] Zvára, K.: *Biostatistika*, Karolinum, Praha, 2004
- [22] Meloun, M.; Militký, J.: *Statistické zpracování experimentálních dat*, Plus, Praha, 1994
- [23] Gurram, I.; Kavitha, M., V., S.; Nagabhushnam, M., V.; Bonthagara, B.; Reddy, D., N.: Overview of validation, basic concepts and analytical method process validation, *Indo american journal of pharmaceutical sciences*, 4:6, 1665-1680, 2017
- [24] Budowle, B.; Schutzer, S., E.; Morse, S., A.; et al.: Criteria for validation of methods in microbial forensics, *Applied and environmental microbiology*, 74:18, 5599-5607, 2008
- [25] Theodorsson, E.: Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry, *Bioanalysis*, 4:3, 305-320, 2012